人钙调磷酸酶(CaN)酶联免疫分析

试剂盒使用说明书

本试剂盒仅供研究使用。

检测范围： **96T**

1U/L – 32U/L

使用目的：

本试剂盒用于测定人血清、血浆及相关液体样本中钙调磷酸酶(CaN)含量。

实验原理

本试剂盒应用双抗体夹心法测定标本中人钙调磷酸酶(CaN)水平。用纯化的人钙调磷酸酶(CaN)抗体包被微孔板，制成固相抗体，往包被单抗的微孔中依次加入钙调磷酸酶(CaN)，再与 HRP 标记的钙调磷酸酶(CaN)抗体结合，形成抗体-抗原-酶标抗体复合物，经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在 HRP 酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中的钙调磷酸酶(CaN)呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度（OD 值），通过标准曲线计算样品中人钙调磷酸酶(CaN)浓度。

试剂盒组成

1	30 倍浓缩洗涤液	20ml×1 瓶	7	终止液	6ml×1 瓶
2	酶标试剂	6ml×1 瓶	8	标准品（64U/L）	0.5ml×1 瓶
3	酶标包被板	12 孔×8 条	9	标准品稀释液	1.5ml×1 瓶
4	样品稀释液	6ml×1 瓶	10	说明书	1 份
5	显色剂 A 液	6ml×1 瓶	11	封板膜	2 张
6	显色剂 B 液	6ml×1/瓶	12	密封袋	1 个

标本要求

1．标本采集后尽早进行提取，提取按相关文献进行，提取后应尽快进行实验。若不能马上进行试验，可将标本放于-20℃保存，但应避免反复冻融

2．不能检测含 NaN3 的样品，因 NaN3 抑制辣根过氧化物酶的（HRP）活性。

操作步骤

1. 标准品的稀释：本试剂盒提供原倍标准品一支，用户可按照下列图表在小试管中进行稀释。

32U/L	5 号标准品	150μl 的原倍标准品加入 150μl 标准品稀释液
16U/L	4 号标准品	150μl 的 5 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
8U/L	3 号标准品	150μl 的 4 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
4U/L	2 号标准品	150μl 的 3 号标准品加入 150μl 标准品稀释液
2U/L	1 号标准品	150μl 的 2 号标准品加入 150μl 标准品稀释液

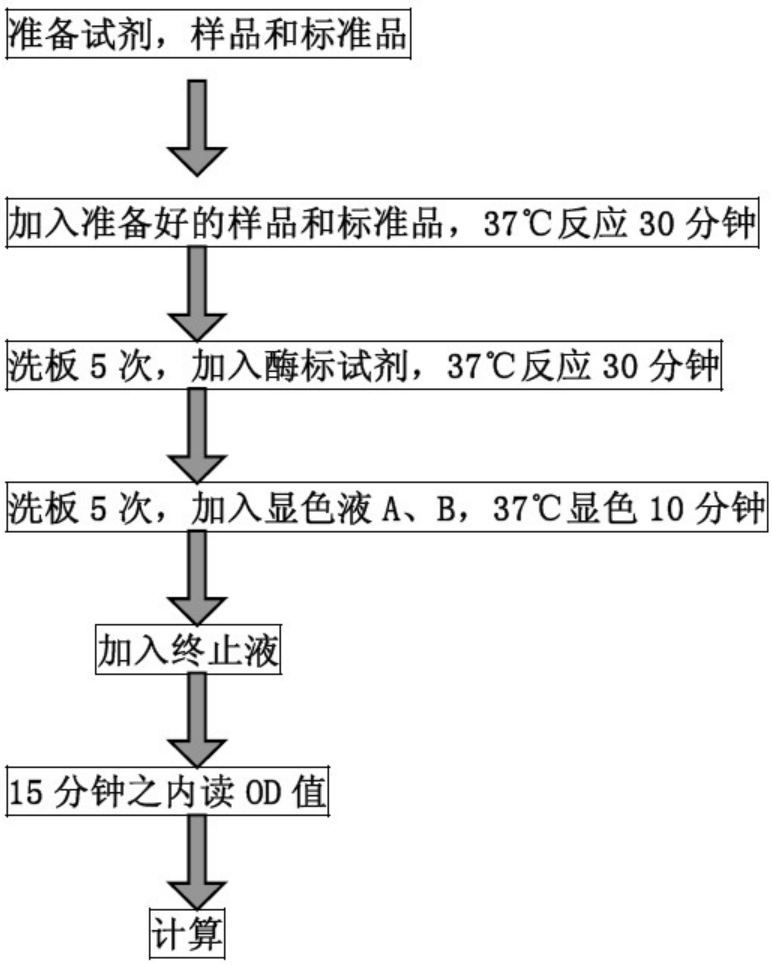
2. 加样：分别设空白孔（空白对照孔不加样品及酶标试剂，其余各步操作相同）、标准孔、待测样品孔。在酶标包被板上标准品准确加样 50μl，待测样品孔中先加样品稀释液 40μl，

created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

然后再加待测样品 10μl（样品最终稀释度为 5 倍）。加样将样品加于酶标板孔底部，尽量不触及孔壁，轻轻晃动混匀。

3. 温育：用封板膜封板后置 37℃温育 30 分钟。
4. 配液：将 30 倍浓缩洗涤液用蒸馏水 30 倍稀释后备用
5. 洗涤：小心揭掉封板膜，弃去液体，甩干，每孔加满洗涤液，静置 30 秒后弃去，如此重复 5 次，拍干。
6. 加酶：每孔加入酶标试剂 50μl，空白孔除外。
7. 温育：操作同 3。
8. 洗涤：操作同 5。
9. 显色：每孔先加入显色剂 A50μl，再加入显色剂 B50μl，轻轻震荡混匀，37℃避光显色 15 分钟.
10. 终止：每孔加终止液 50μl，终止反应（此时蓝色立转黄色）。
11. 测定：以空白空调零，450nm 波长依序测量各孔的吸光度（OD 值）。 测定应在加终止液后 15 分钟以内进行。

操作程序总结：



计算

以标准物的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，在坐标纸上绘出标准曲线，根据样品的 OD 值由标准曲线查出相应的浓度；再乘以稀释倍数；或用标准物的浓度与 OD 值计算出标准曲线的直线回归方程式，将样品的 OD 值代入方程式，计算出样品浓度，再乘以稀释倍数，

created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

即为样品的实际浓度。

注意事项

1. 试剂盒从冷藏环境中取出应在室温平衡 15-30 分钟后方可使用，酶标包被板开封后如未用完，板条应装入密封袋中保存。
2. 浓洗涤液可能会有结晶析出，稀释时可在水浴中加温助溶，洗涤时不影响结果。
3. 各步加样均应使用加样器，并经常校对其准确性，以避免试验误差。一次加样时间最好控制在 5 分钟内，如标本数量多，推荐使用排枪加样。
4. 请每次测定的同时做标准曲线，最好做复孔。如标本中待测物质含量过高（样本 OD 值大于标准品孔第一孔的 OD 值），请先用样品稀释液稀释一定倍数（n 倍）后再测定，计算时请最后乘以总稀释倍数（×n×5）。
5. 封板膜只限一次性使用，以避免交叉污染。
6. 底物请避光保存。
7. 严格按照说明书的操作进行，试验结果判定必须以酶标仪读数为准.
8. 所有样品，洗涤液和各种废弃物都应按传染物处理。
9. 本试剂不同批号组分不得混用。
10. 如与英文说明书有异，以英文说明书为准。

保存条件及有效期

1. 试剂盒保存:；2-8℃。
2. 有效期：6 个月

created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional